

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870502

研究課題名(和文) 先端成長性の消失による根の葉状化機構の解明

研究課題名(英文) Studies on the evolution of foliose root with the loss of apical growth

研究代表者

厚井 聡 (K01, Satoshi)

大阪市立大学・大学院理学研究科・講師

研究者番号：60470019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：カワゴケソウ科で起こった根の形態進化について研究を行った。カワゴケソウ亜科のアフリカクレードについて形態観察した結果、クレード内で根の分枝様式が内生から外生へ進化したことが明らかとなり、アジアクレードとは独立に起きたと推定された。外生分枝を行う種でのみ葉状の根がみられることから、分枝様式の変化に伴い根の葉状化が可能であったことが示唆された。アジアのカワゴケソウ科を解析したところ、ラオスのカワゴロモ属では葉状から半円柱状への進化が3回起こったと推定された。また、ラオスでの野外調査の結果、相同性が不明な軸器官をもつ種が発見された。

研究成果の概要(英文)：Morphological evolution of root in aquatic angiosperm family Podostemaceae was studied. The evolution of root branching from endogenous to exogenous development occurred within the African Podostemoideae independently to the Asia clade. It is suggested that the evolution of crustose root involved the transition of root branching. On the other hands, subcylindrical roots evolved three times from crustose roots within Lao Hydrobryum. New species was found in Laos and the homology of its enigmatic organs was hard to identify.

研究分野：植物進化形態学

キーワード：カワゴケソウ科 形態進化 多様性 新種 根 分裂組織 分枝様式

1. 研究開始当初の背景

維管束植物の体制は、円柱状の茎と扁平な葉(合わせてシュートと呼ぶ)からなる地上部と、円柱状の根からなる地下部からできている。祖先的な維管束植物は二又分枝する軸的器官のみを持っていたことから、扁平な器官(葉)は軸的器官から進化したことになり、その進化過程と進化機構を解明することは維管束植物の多様性を理解する上で重要な課題である。

カワゴケソウ科は滝や河川といった他の維管束植物が生存できない急流中に生育しており、根で川床の岩へ固着し、根の側面または上面からシュートと花を形成する独特の形態を示す。さらに、根が葉緑体を持って光合成を行い、根本来の機能とは異なる役割を果たしている。一般に維管束植物の根は、根冠に覆われた放射相称の分裂組織が先端に存在するため、先端成長を行う。そして、側根は主根の中心を走る維管束付近から生じ、主根の表皮を突き破って発生する(内生発生)。カワゴケソウ科に最も近縁なオトギリソウ科も典型的な根の形態と分枝様式を持っている。カワゴケソウ科のなかで初期に分岐したトリステイカ亜科とウェッデリナ亜科も、根冠を失った一部の属を除きこれらの形質は同じである。ところが、カワゴケソウ科のなかで最初に分岐したアメリカ産の種は、根は軸状であるものの、分裂組織は左右相称であり明瞭な背腹性を持つ。さらに、アジア産の種では、根の形態は著しく多様化しており、細い軸状から扁平化して幅広い帯状まで存在し、さらには先端成長性を失って扇状に成長する根が進化している。分枝様式にも変化が生じており、内生分枝を行わず、根端部付近で分裂組織が分断されるように分枝する(外生分枝)。また、根冠はトリステイカ亜科やカワゴケソウ科の一部の種で独立に消失している。

以上のように、カワゴケソウ科の根は形質(形態・分裂組織・分枝様式・根冠)を次々に変化させ、著しい多様性を生み出している。しかし、アメリカ産カワゴケソウ科とアジア産カワゴケソウ科の間には大きな形態的ギャップがあるが、その間に位置するアフリカ産カワゴケソウ科の根の分裂組織、分枝様式、根冠の有無はほとんど解析されていないため、形質がどのような過程で移行したのか分かっていない。また、維管束植物の根の分裂組織の中心には細胞分裂をほとんど行わない組織(静止中心)が存在し、その周りに各組織の始原細胞が配置している。静止中心は、始原細胞の維持に重要であり、根が無限的な先端成長を行う上で必須の組織である。しかし、そのような分裂組織の組織学的構造がどのように変化したことでカワゴケソウ科の根の形態進化が起こったのかは分かっていない。さらに、背腹性の決定に関与する遺伝子の機能が失われると葉が円柱状になることが知られており、背腹性が扁平

な器官の発生に重要であることが示されているが、同じ機構がカワゴケソウ科の根の扁平化に適用されているのかは検証されていない。

2. 研究の目的

カワゴケソウ科の根の扁平化・葉状化の進化過程と進化機構を解明することを目的として研究を行った。

(1) アフリカ産カワゴケソウ亜科の根の解析

これまでほとんど未解析であったアフリカに分布するカワゴケソウ亜科の根の分裂組織の構造と分枝様式を解剖学的に観察し、系統関係に基づいて根の進化過程を明らかにする。さらに、アフリカ産カワゴケソウ科の根の祖先的形質状態を推定し、カワゴケソウ科で起こった根の形態進化の過程を明らかにする。

(2) 根端分裂組織の組織学的解析

カワゴケソウ科を全体的に網羅するように、根端分裂組織の組織学的構造を細胞分裂活性と遺伝子発現パターンを指標にして明らかにする。そして、「分裂組織の左右相称性(背腹性)」、「外生分枝」、「葉状化(先端成長性の消失)」、「根冠の消失」が、どのような分裂組織構造の変化によって引き起こされたのかを明らかにする。また、扁平な根において、葉の背腹性の決定機構と同様の機構が関与しているのかを検証する。

(3) カワゴケソウ科の扁平な根の起源

Terniopsis 属(トリステイカ亜科)は完全に円柱状の根(普通根)と不定シュート形成を行いやや扁平なカワゴケソウ科特有の根(特殊根)の両方を持つ唯一の属である。この属はカワゴケソウ科の系統的基部に位置することから、カワゴケソウ科の根の起源を考える上で重要である。*Terniopsis* 属の普通根と特殊根を対象に、上記(2)と同様の組織学的解析を行い、両者の比較から初期進化段階における根の扁平化の機構を推定する。

3. 研究の方法

(1) アフリカのカワゴケソウ科 15 種 33 サンプルを用い、根端分裂組織の構造や分枝過程を観察した。その他に文献情報から引用した6種の根の形態および分枝過程のデータを用いた。

(2) ラオスで2回、タイで2回調査を行い、カワゴケソウ科の採集を行った。サンプルは FAA 固定して観察し、一部は分子系統解析のためにシリカゲルで乾燥させた。葉緑体 *matK* 配列をシーケンスし、分枝系統樹を作成した。

(3) 静止中心で発現する WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 5、静止中心と周りの始原細胞で発現する PLETHORA、内皮で発現する SCARECROW、中心柱で発現する SHORT ROOT について、保存性の高い領域で縮重プライマーを作成し、クローニングを試みた。

4. 研究成果

(1) アフリカ産カワゴケソウ亜科の系統的な基部で分岐した *Inversodicraea*, *Monandriella*, *Saxicolella* では、根は内生分枝していた。一方、派生的な *Ledermanniella*, *Letestuela*, *Macropodiella*, *Dicraeanthus* では外生分枝を行っていた。文献情報も合わせて形質進化を推定した結果、アフリカの系統で内生分枝から外生分枝への進化が1回起こったと推定された。アジアの系統でも外生分枝への進化が起こっていることから、カワゴケソウ科では独立に2回、内生分枝から外生分枝への進化が起こったことが示唆された。また、外生分枝を行う種でのみ葉状の根がみられることから、分枝様式の変化に伴い根の葉状化が可能であったことが示唆された。

(2) ラオスのカワゴケソウ科カワゴケソウ亜科について、野外調査、分子系統解析、比較形態観察を行い、葉状の根をもつ新種2種、葉状の根をもつ新産種1種、帯状の根をもつ新産種1種を見つけて記載した。また、ラオスのトリステカ亜科についても同様の解析を行い、帯状の茎をもつが根を欠く新種3種と新産3種、軸状の茎と軸状の根をもつ新種4種と新産4種を見つけて記載した。さらに、インドにおいて、葉状の根をもつ新種1種を見つけて記載した。これらの研究から、根の葉状化の進化過程がより詳細に明らかになり、これまでの研究と合わせると根の葉状化はカワゴケソウ科内で独立に4回起こったと推定された。

(3) ラオス北部で野外調査を行った結果、これまでの維管束植物およびカワゴケソウ科植物に適用してきた形態学の知見では解釈不可能な形態をもつカワゴケソウ科の1種を発見した。この種類は、扁平な器官(根と相同と考えられる)で岩に固着し、そこから複数の軸状器官が束のようにつくられるが、この軸状器官の先端付近から新たな軸状器官や花がつくられていた。この軸状器官が葉と相同であるならば、葉から葉や花がつくられることになる。また、軸状器官が茎や根と相同であるならば、茎や根が葉と同じ発生様式で扁平な根からつくられていることになる。分子系統解析から、この種が東南アジアで著しく多様化したカワゴケソウ科の1系統の基部で分岐していることが明らかとなり、この系統の形態的多様化を理解する上でも非常に重要な種であることが判明した。

(4) 通常 *Hydrobryum* 属の扇状の根では、分枝とシュート形成に位置的な相関を見出すことができない。半円柱状の根をもつ *Hydrobryum subcylindricum* および *H. ramosum* を観察したところ、根端の中央にシュートが形成され、それに伴って根が二分分枝を起こしていた。帯状の根をもつ *H.*

taeniatum でも同様に根端の中央にシュートが形成されていた。一方、*H. subcrustaceum* の根は、帯状から扇状の形態を示し、根がくびれを生じる場所にシュートが形成されており、分枝に規則性が見られた。近縁種の *Cladopus* 属では根の分枝とシュートの形成位置に規則性が見られることから、これらの根では分枝様式が祖先返りしていることが示唆された。一方で、半円柱状の根をもつ *H. subcylindricum* および *H. ramosum* の根端分裂組織は、根冠を失っており、近縁種の *Cladopus* 属のような背腹性は見られなかった。従って、分裂組織構造は祖先返りを起こしていないと推定された。新たに採集したサンプルを系統解析した結果、*Hydrobryum* 属において葉状から半円柱状への根の進化は3回起こったと推定された。

(5) 根の分裂組織の構造を遺伝子レベルで明らかにするために、根の形態形成に関わる遺伝子のクローニングを行い、新たに葉状の根をもつ種から *PHABULOSA* 相同遺伝子を単離した。一方、軸状の根をもつ種からは単離を行っている段階であり、その他の遺伝子のクローニングを含めて、今後発現解析を行っていく予定である。

(6) *Terniopsis* 属の種子を2016年度に採取した。今後、これを用いて実生に生じる普通根と特殊根の比較解析を行う予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

1. Masahiro Kato, Mandy Chuk-Kwan Wong, Janice Pei-Lai Lo and Satoshi Koi. 2017. A *Cladopus* Species (Podostemaceae) Rediscovered from Hong Kong. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 68: 17–22. <http://doi.org/10.18942/apg.201615>
2. Satoshi Koi, Tetsuya Hisanaga, Katsutoshi Sato, Masaki Shimamura, Katsuyuki T. Yamato, Kimitsune Ishizaki, Takayuki Kohchi, Keiji Nakajima. 2016. An evolutionarily conserved plant RKD factor controls germ cell differentiation. *Current Biology* 26: 1775–1781. doi: 10.1016/j.cub.2016.05.013
3. Petcharat Werukamkul, La-aw Ampornpan, Masahiro Kato, Satoshi Koi. 2016. New Species and New Records of Podostemaceae from Phitsanulok Province, Northern Thailand. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 67: 97–114. <http://doi.org/10.18942/apg.201515>

4. Masahiro Kato, Satoshi Koi, Chie Tsutsumi, Natsu Katayama. 2015. A new crustose species of *Zeylanidium* (Podostemaceae) from Kerala, India. *Rheedea* 25: 156–158. http://www.iaat.org.in/images/Rheeda_a_downloads/Rheeda_25_2/Rheeda_252_156-158.pdf
5. Satoshi Koi, Masahiro Kato. 2015. Additions to Podostemaceae subfamily Podostemoideae of Laos. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 66: 181–187. <http://doi.org/10.18942/apg.KJ00010115703>
6. Satoshi Koi, Masahiro Kato. 2015. The taxonomy of Podostemaceae subfamily Tristichoideae in Laos, with descriptions of seven new species. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica* 66: 61–79. <http://doi.org/10.18942/apg.KJ0001001421>
7. Satoshi Koi, Hajime Ikeda, Rolf Rutishauser, Masahiro Kato. 2015. Historical biogeography of river-weeds (Podostemaceae). *Aquatic Botany* 127: 62–69. DOI: 10.1016/j.aquabot.2015.08.003

〔学会発表〕(計6件)

1. 厚井聡, 加藤雅啓. ラオス産カワゴケソウ科の根の多様化に関する研究. 日本植物分類学会第16回大会(京都府京都市). 2017年3月11日.
2. 厚井聡. カワゴケソウ科に見られる特異な分枝. 日本植物学会第80回大会(沖縄県宜野湾市). 2016年9月18日.
3. 厚井聡, 久永哲也, 嶋村正樹, 石崎公庸, 河内孝之, 中島敬二. タイ類ゼニゴケの配偶子形成における MpRKD 遺伝子の機能解析. 第4回近畿植物学会講演会(大阪府交野市). 2015年11月7日.
4. 厚井聡, 久永哲也, 嶋村正樹, 石崎公庸, 河内孝之, 中島敬二. ゼニゴケの生殖における RWP-RK ファミリー遺伝子 MpRKD の機能. 第56回日本植物生理学会年会(東京都世田谷区). 2015年3月16日.
5. Satoshi Koi, Ryoko Imaichi, Masahiro Kato. Evolution of root morphology in Podostemaceae. *Contribution of Genetics to Plant Conservation, Brazil - Japan International Workshop 2015 (Piracicaba)*. 3 February 2015.
6. Satoshi Koi, Masaki Shimamura, Kimitsune Ishizaki, Takayuki Kohchi, Keiji Nakajima. Functions of the RKD gene family in reproduction of basal

land plant *Marchantia polymorpha*. *Marchantia Workshop 2014 (Kobe)*. 14 December 2014.

〔その他〕

ホームページ等

http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/biol/ptaxo/g_k_001.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

厚井聡 (K01, Satoshi)

大阪市立大学・大学院理学研究科・講師

研究者番号: 60470019